

## ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПНЕВМОНИЯХ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Л.Н. Журавлева, В.И. Новикова

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

## Реферат

Проблема пневмоний у новорожденных остается крайне актуальной, что связано с высоким уровнем заболеваемости. Развитие неонатальных пневмоний, по мнению многих авторов, во многом связано с особенностями иммунологической резистентности новорожденных. Целью нашей работы было оценить состояние клеток иммунитета путем исследования комплекса показателей функциональной активности системы иммунитета у новорожденных с пневмониями. Под нашим наблюдением находилось 44 новорожденных с неонатальными пневмониями, группу сравнения составили 20 новорожденных без патологии респираторного тракта. В группе детей с неонатальными пневмониями не было выявлено достоверной разницы в показателях сегментоядерных нейтрофилов, СОЭ, других показателей лейкоцитарной формулы. У детей с неонатальными пневмониями был выявлен дефицит гуморального звена (статистически достоверное снижение уровня IgA до  $0,43 \pm 0,17$ ). Т-клеточного иммунитета (снижение абсолютного и относительных количеств CD3+ и CD4+ и изменением иммунорегуляторного индекса). У новорожденных с пневмониями отмечалось снижение уровня фагоцитоза по сравнению с контрольной группой. Развитие пневмонии у новорожденных приводит к изменению соотношения в субпопуляциях нейтрофилов, указывая на ослабление неспецифического иммунитета в периферической крови при заболевании.

**Ключевые слова:** новорожденные, пневмония, дистресс-синдром, иммунитет, диагностика, иммунный статус, недоношенные дети.

## SYSTEM OF CONGENITAL IMMUNITY IN PNEUMONIA IN NEWBORNS

L.N. Zhuravleva, V.I. Novikova

Educational Institution "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

## Abstract

The problem of pneumonia in newborns remains urgent due to high morbidity. The development of neonatal pneumonia, according to literature findings, is largely due to the peculiarities of the immune system of newborns. The aim of our work was to assess the state of immune cells by examining the functional activity of the immune system in newborns with pneumonia. We observed 44 newborns with neonatal pneumonia, the comparison group consisted of 20 newborns without respiratory tract pathology. In the group of children with neonatal pneumonia, there was no significant difference in the values of segmented neutrophils, ESR, and other inflammatory indicators. In children with neonatal pneumonia, a humoral deficit was found (a statistically significant decrease of the level of IgA to  $0.43 \pm 0.17$ ), decreasing of T-cell immunity (reduction of absolute and relative amounts of CD3+ and CD4+ and changes of the immunoregulatory index). In newborns with pneumonia, there was a decrease in phagocytosis compared with the control group. The development of pneumonia in newborns leads to a change in the ratio in neutrophil subpopulations, indicating a weakening of non-specific immunity in the peripheral blood in case of the disease.

**Key words:** newborns, pneumonia, distress syndrome, immunity, diagnosis, immune status, premature babies.

Патология дыхательной системы является одной из основных причин высокой заболеваемости и смертности новорожденных детей [1, 2]. И одним из наиболее тяжелых ее проявлений являются пневмонии [1, 3, 4]. Эффективное лечение тяжелых инфекционно-воспалительных заболеваний респираторного тракта у новорожденных детей является актуальной проблемой современной неонатологии. В последние 10 лет среди тяжелых бактериальных инфекций у недоношенных

новорожденных увеличился удельный вес пневмонии, развившейся у детей, находящихся на продленной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) в отделениях реанимации. Широкое внедрение в неонатологию высокотехнологичных методов обследования и лечения, в том числе аппаратной искусственной вентиляции легких, обеспечивает возможность успешного выхаживания новорожденных с морфо-функциональной незрелостью и глубокими нарушениями функции дыхания [5, 6,

7]. Однако в условиях незавершенности становления иммунной системы и развития механизмов местной неспецифической противоинфекционной защиты, у новорожденных возможно не только тяжелое течение воспалительных местных реакций, но и генерализация процесса [8, 9].

Совершенствование методов антибактериальной терапии тяжелых форм инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных детей за счет использования новых поколений антибиотиков и антибактериальных средств не всегда дает ожидаемый положительный результат по причине быстрого развития поливалентной устойчивости нозокомиальной микрофлоры и внутриклеточных возбудителей инфекции и значительной распространенности грибковых патогенов. Это диктует необходимость поиска новых подходов к лечению таких больных.

Определение показателей функционального состояния иммунитета позволяет оценить резистентность организма новорожденного к инфекционным агентам, прогнозировать развитие, течение и осложнения заболевания [10, 11]. В связи с функциональной незрелостью лейкоцитов новорожденные обладают повышенной предрасположенностью к бактериальным инфекциям, при этом неспецифический иммунитет особенно важен в неонатальном периоде [8, 12, 13]. В то же время функции и роль нейтрофилов в иммунных реакциях остаются малоизученными, и есть мнение, что полная диагностика фагоцитарной системы не разработана [14, 15], так как судить о толерантности организма ребенка к бактериальной инвазии на основании тестирования отдельных показателей сложно, и не позволяет проследить весь спектр бактерицидных функций фагоцитов [8, 16, 17].

**Цель работы** – оценить состояние клеток иммунитета путем исследования комплекса показателей функциональной активности системы иммунитета у новорожденных с пневмониями.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Данное исследование проводилось в 2017-2018 годах на базах роддомов города Витебска и Витебского областного детского клинического центра. Под нашим наблюдением находилось 44 новорожденных с неонатальными пневмониями (19 детей с врожденной пневмонией и 25 детей с респираторным дистресс-синдромом, осложненным пневмонией), группу сравнения составили 20 «условно здоровых» новорожденных без патологии респираторного тракта.

Объектом иммунологического исследования была периферическая кровь новорожденных детей. Исследование венозной крови осуществляли на 7-15 сутки жизни. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови основывалась на результатах фенотипирования лимфоцитов после выделения мононуклеарных клеток на градиенте плотности фиколл-верографин (по *Boyum*). Фенотипирование лимфоцитов проводили общепринятым методом люминесцентной микроскопии при окрашивании суспензии мононуклеарных клеток моноклональными антителами

к кластерам дифференцировки CD3, CD4, CD8, CD16, CD25. При проведении этого исследования использовались моноклональные антитела, конъюгированные с флюоресцеинизотиоцианатом или фикоэритрином. Также мы проводили определение уровня иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке методом иммуноферментного анализа.

Функциональную активность фагоцитирующих клеток оценивали по показателям фагоцитоза, спонтанного и индуцированного НСТ-теста. Уровень кислород-зависимой активации нейтрофильных гранулоцитов (НГ) определяли в НСТ-тесте по числу формазан-положительных клеток. По результатам индуцированного НСТ-теста (ИС-индекс стимуляции) судили о резервах микробицидной функции НГ. В качестве стимулятора использовали продигиазан в концентрации 20 мг/мл.

Цитохимическую активность фагоцитов также определяли по активности миелопероксидазы.

Осуществлялся тщательный сбор соматического и акушерско-гинекологического анамнеза матерей, оценка факторов риска развития осложнений в раннем периоде адаптации, клиническое наблюдение и лабораторное обследование (общий анализ крови, мочи, рентгенография грудной клетки, ультразвуковое исследование головного мозга и органов брюшной полости, биохимический анализ крови).

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Statistica 6. Вычисляли среднюю арифметическую и ее стандартную ошибку. Для оценки значимости различий показателей использовали парный Т критерий Вилкоксона для зависимых выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемой группе было 44 новорожденных ребенка с пневмониями (19 детей с врожденной пневмонией и 25 детей с респираторным дистресс-синдромом, осложненным пневмонией), у которых в раннем неонатальном периоде отмечалась дыхательная недостаточность. Сравнительная характеристика детей указана в **таблице 1**.

Все дети исследуемой группы родились от беременностей высокого риска (угроза прерывания, кольпит, токсикоз в 1 триместре, анемия, гестоз, эпизоды острых инфекционных болезней и обострение хронических воспалительных заболеваний). В 34 случаях (77,3%) встречались такие осложнения, как фетоплацентарная недостаточность, хроническая внутриутробная гипоксия, длительный безводный промежуток, первичная слабость родовой деятельности, потребовавшая медикаментозной стимуляции, обвитие пуповины вокруг шеи плода. Средняя оценка по шкале Апгар на 1-й минуте жизни составляла  $5,9 \pm 0,8$  балла, на 5-й минуте жизни у 15 детей было  $6,4 \pm 1,2$  балла, а 29 детей находились на ИВЛ. Все новорожденные дети данной группы родились в тяжелом или средней тяжести состоянии, обусловленном дыхательной недостаточностью и перинатальным поражением центральной нервной системы гипоксического генеза, и нуждались в проведении комплекса реанимационных мероприятий и интенсивной

Таблица 1. Сравнительная характеристика новорожденных с пневмониями и «здоровых» новорожденных

	Новорожденные с пневмониями (N=44)	«Здоровые» новорожденные (N=20)
Мальчики (%)	25 (56,8%)	12 (60%)
Девочки (%)	19 (43,2%)	9 (40%)
Средний срок гестации, нед.	32,47±3,46	35,23±1,45
Доношенные (%)	12 (27,3%)	9 (45%)
Недоношенные (%)	32 (72,7%)	11 (55%)
Средняя масса тела при рождении, г	1806,43±809,75	2565,82±506,67
Способ родоразрешения: естественный: абс. (%)	20 (45,5%)	13 (65%)
Кесарево сечение	24 (54,5%)	7 (35%)
Пренатальное введение дексаметазона	17 (38,6%)	2 (10%)

терапии уже в родильном доме, проводилась ИВЛ, инфузионная и посиндромная медикаментозная терапия с учетом кислотно-щелочного состояния, гемоглобина, электролитного состава и биохимических показателей сыворотки крови.

В клинической картине часто наблюдались признаки нарушения деятельности ЦНС: синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, угнетения нервной деятельности, гипертензионно-гидроцефальный или судорожный синдром. По мере стабилизации витальных функций организма все дети были переведены в УЗ «Витебский детский областной клинический центр».

В группу сравнения (контрольную) группу вошли «условно» здоровые доношенные и почти доношенные (35–36 неделя гестации) новорожденные дети (n=20) без признаков неонатальной пневмонии и дыхательной недостаточности. В контрольной группе 12 детей (60%) родились от матерей с отягощенным акушерско-гинекологическим и соматическим анамнезом. Неблагоприятное течение такой беременности и осложнения в родах отмечались у 9 женщин (45%). Средняя оценка по шкале Апгар составила на 1-й минуте жизни 6,7±0,8 балла, на 5-й минуте жизни 7,6±0,6 балла. Несмотря на тенденцию к нормализации оценки по Апгар к 5-й минуте жизни, признаки транзиторного нарушения неврологического статуса (церебральная ишемия I степени, синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости) отмечались в первые сутки жизни у 5 детей. Маловесные к гестационному сроку родились 4 детей. Всем детям с отклонениями в неврологическом статусе и другими транзиторными состояниями в раннем периоде адаптации создавался охранительный режим, проводилась гемостатическая терапия, витаминотерапия, по показаниям ноотропные препараты.

Таким образом, у 7 новорожденных отмечалось физиологическое течение раннего периода адаптации. Они не имели ни соматических, ни неврологических нарушений и были выписаны домой в удовлетворительном состоянии на 7–9 сутки жизни. Из 13 новорожденных, имевших отклонения в раннем периоде адаптации, у всех на фоне проводимой терапии отмечалось улучшение состояния, устранение неврологических нарушений в течение неонатального периода.

При сопоставлении показателей гемограммы у новорожденных контрольной и исследуемой групп на 5–7 сутки жизни было выявлено, что для детей с неонатальными пневмониями характерны снижение уровня гемоглобина и эритроцитов, тенденция к лейкопении, сдвиг лейкоцитарной формулы влево (увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов).

Также хотелось бы отметить отсутствие достоверной разницы в показателях сегментоядерных нейтрофилов, СОЭ, других показателей лейкоцитарной формулы. Данный факт можно трактовать ареактивностью организма и незрелостью иммунной системы новорожденных детей с неонатальными пневмониями (в исследуемой группе из 44 детей 32 были недоношенными).

Состояние гуморального звена иммунитета мы оценивали по концентрации иммуноглобулинов основных классов. Учитывая бактериальный генез воспаления при неонатальных пневмониях, более сниженная продукция Ig A у пациентов данной группы отображает отсутствие достаточного местного и общего иммунного ответа и может быть предиктором формирования рецидивирующей и хронической патологии бронхолегочной системы у детей впоследствии. Также хотелось отметить некоторую тенденцию к повышению IgM у детей с неонатальными пневмониями. А также некоторое повышение уровня IgG в исследуемой группе, но оно не являлось статистически достоверным.

Таблица 2. Сравнение показателей гемограммы у новорожденных контрольной и исследуемой групп на 7–15 сутки жизни

Показатели	Группа сравнения (n=20)	Дети с неонатальными пневмониями (n=44)
Гемоглобин (г/л)	158,2±14,9	129±21,4*
Лейкоциты (×10 <sup>9</sup> /л)	13,2±2,9	6,7±3,4*
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	1,05±0,15	1,7±0,45*
Сегментоядерные нейтрофилы (×10 <sup>9</sup> /л)	3,9±0,35	4,2±0,43
Эозинофилы (×10 <sup>9</sup> /л)	0,18±0,08	0,16±0,1
Лимфоциты (×10 <sup>9</sup> /л)	4,15±0,5	3,9±0,6
Моноциты (×10 <sup>9</sup> /л)	0,9±0,15	1,1±0,3

\* – статистически значимыми считали различия при p &lt; 0,05

Таблица 3. Сравнительная характеристика показателей гуморального иммунитета у детей с неонатальными пневмониями

Показатели (г/л)	Группа сравнения (n=20)	Дети с неонатальными пневмониями (n=32)
IgA	1,2±0,15	0,43±0,17*
IgM	0,49±0,13	0,63±0,2
IgG	21,2±0,45	24,3 ±0,52

\* – статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ 

У детей с неонатальными пневмониями дефицит Т-клеточного иммунитета характеризовался достоверным снижением абсолютного и относительных количеств CD3+ и CD4+ и изменением иммунорегуляторного индекса.

наблюдаемое снижение миелопероксидазы указывает на значительное нарушение в системе иммунитета при воспалительных изменениях трахеобронхиального дерева.

Таким образом, состояние иммунитета у новорожденных детей с инфекционно-воспалительными за-

Таблица 4. Сравнительная характеристика показателей клеточного иммунитета у детей с неонатальными пневмониями

Показатели	Группа сравнения (n=20)	Дети с неонатальными пневмониями (n=44)
CD3+ лимфоциты (%)	64,3±6,9	35,2±5,7*
CD3+ лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	2,5±0,39	1,19±0,28*
CD4+ лимфоциты (%)	52,3±2,8	32,5±4,67*
CD4+ лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	2,4±0,35	1,3±0,21*
CD8+ лимфоциты (%)	17,7±1,2	23,2±0,53
CD8+ лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,71±0,12	0,65±0,29
CD4+/CD8+ (иммунорегуляторный индекс)	2,2±0,4	1,5±0,36*
CD16+ лимфоциты (%)	17,4±1,5	21,5±4,2
CD16+ лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,75±0,6	1,2±0,7
CD25+ лимфоциты (%)	24,2±3,1	19,4±4,5
CD25+ лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,92±0,43	0,78±0,24

\* – статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ 

Таблица 5. Сравнительная характеристика системы фагоцитоза у детей с неонатальными пневмониями

Показатели	Группа сравнения (n=20)	Дети с неонатальными пневмониями (n=44)
НСТ тест, %	18,4 ± 5,2	32,3 ± 3,4*
ИС НСТ	2,4±0,34	1,7±0,28*
Фагоцитоз, %	65,6± 9,2	49,8±6,65*
Миелопероксидаза, нг/мл	176 ± 25,3	88±43,2*

\* – статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ 

Таким образом, отмечается нарушение способности к восстановлению НСТ, совпадающее с патологией кислородозависимых механизмов биоцидности. В связи с этим НСТ-тест рассматривается как цитохимический критерий готовности к завершению фагоцитозу. Кроме того, расстройство функциональной активности нейтрофилов может явиться одной из причин замедленного выведения циркулирующих иммунных комплексов и их накопления.

У новорожденных с пневмониями отмечалось снижение уровня фагоцитоза по сравнению с контрольной группой. Развитие пневмонии у новорожденных приводит к изменению соотношения в субпопуляциях нейтрофилов, указывая на ослабление неспецифического иммунитета в периферической крови при заболевании и, по всей видимости, является компенсаторной реакцией. При определении кислородозависимой метаболической функции фагоцитов отмечалось повышение количества НСТ-позитивных клеток в спонтанных условиях. При этом

болеванием легких характеризуется повышением ранних предшественников Т- и В-лимфоцитов, незрелых Т-лимфоцитов и нейтрофилов, дефицитом зрелых иммунокомпетентных клеток (Т и В-лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов), несовершенным фагоцитозом.

## ВЫВОДЫ

1. Пневмонии у новорожденных реализуются на фоне иммунной недостаточности врожденного генеза с персистирующей индукцией вторичных сдвигов в популяциях и субпопуляциях лимфоцитов, что формирует замкнутый клинический эквивалент воспаления.
2. У новорожденных с пневмониями в неонатальном периоде отмечается выраженное угнетение метаболической активности нейтрофилов.
3. Выявляемые нарушения в системе иммунитета являются дополнительными факторами обоснования клинического диагноза и основанием для адекватного

лечения в последующем, а также могут служить маркерами мониторингового контроля течения воспалительного процесса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Nissen, M.D. Congenital and neonatal pneumonia/ M.D. Nissen // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2007. – V. 8. – №3. – P. 195–203.
2. Barton, L. Causes of death in the extremely low birth weight infant/ L. Barton, J.E. Hodgman, Z. Pavlova// *Pediatrics.* – 1999. – Vol. 103. – №2. – P. 446–51.
3. Зубков, В.В. Результаты проведения клинического аудита инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных /В.В. Зубков, И.И. Рюмина, Н.В. Евтеева // *Акушерство и гинекология.* – 2012. – №7. – С. 74–79.
4. Неонатология – национальное руководство / под ред. академика РАМН проф. Н.Н. Володина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 749 с.
5. Edwards, M.O. Respiratory Distress of the Term Newborn / M.O. Edwards, S.J. Kotecha, S. Kotecha// *Infant. Paediatric Respiratory Reviews.* – 2013. – Vol. 14. – №1. – P. 29–37.
6. Hooven, T.A. Pneumonia. / T.A. Hooven, R.A. Polin // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine.* – 2017. – Vol. 22. – №4. – P. 206–213.
7. Costa, S. Transient tachypnea of the newborn and congenital pneumonia: a comparative study. / S. Costa, G. Rocha, A. Leito // *J. of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* – 2012. – Vol. 25. №7. – P. 992–994.
8. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. М. 2009: 440 с.
9. McGuire, W. Infection in the preterm infant/W. McGuire, L. Clerihew, P.W. Fowlie // *BMJ.* – 2004. – Vol. 2. – P. 329–41.
10. Shen, C. Genetic Factors Contribute to Risk for Neonatal Respiratory Distress Syndrome among Moderately Preterm, Late Preterm, and Term Infants. /C. Shen, Q. Zhang, J. Meyer // *J. of Pediatrics.* – 2016. – Vol. 172. – P. 69–74.
11. Sugitharini, V. Inflammatory mediators of systemic inflammation in neonatal sepsis / V. Sugitharini, A. Prema, T. Berla// *Inflammation Research.* – 2013. – Vol. 62(12). – P. 1025–1034.
12. Ygberg, S. The developing immune system – from foetus to toddler / S. Ygberg, A. Nilsson// *Pediatrics.* – 2012. – Vol. 101(2). – P. 120–127.
13. Kurokawa, C.S. Cord blood cytokine levels in focal early onset neonatal infection after preterm premature rupture of membranes / C.S. Kurokawa // *Turkish Journal of Pediatrics.* – 2013. – Vol. 55(6). – P. 598–605.
14. Lloyd, C.M. Epithelial cytokines and pulmonary allergic inflammation. / C.M. Lloyd, S. Saglani // *Curr. Opin. Immunol.* – 2015. – Vol. 34. – P. 52–58.
15. Parker, D. Innate immunity in the respiratory epithelium. / D. Parker, A. Prince // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 45 (2). – P. 189–201.
16. Cortez, V.S. Diversity and function of group 1 innate lymphoid cells./V.S. Cortez, M. Colonna // *Immunol. Lett.* – 2016. – Vol. 179. – P. 19–24.
17. Ковальчук, Л.В. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (NLR, RLR, CLR)./Л.В. Ковальчук, М.В. Хорева, А.С. Никонова // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* – 2011. – №1. – С. 93–100.